

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
20 mars 2003 (20.03.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 03/022787 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
**C07C 45/28**, C07D 309/12, C07C 67/30, A61K 31/231

(74) Mandataires : **BREESE, Pierre** etc.; Breesé-Majerowicz,  
3, avenue de l'Opéra, F-75001 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR02/03094

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international :  
11 septembre 2002 (11.09.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Données relatives à la priorité :  
01/11815 12 septembre 2001 (12.09.2001) FR

Publiée :  
— avec rapport de recherche internationale

(71) Déposant et

(72) Inventeur : **POTIER, Pierre** [FR/FR]; 14, avenue de Breteuil, F-75007 Paris (FR).

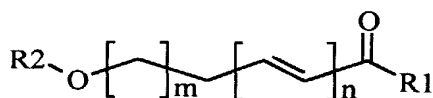
(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **PICOT, Françoise** [—/FR]; 50, rue de Dampierre, F-78460 Chevreuse (FR). **BRAYER, Jean-Louis** [—/FR]; 42, rue Jules Dubrulle, F-60440 Nanteuil Le Haudouin (FR).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: METHOD FOR PREPARING UNSATURATED FATTY HYDROXY-ACIDS AND ESTERS THEREOF, THEIR USE IN PHARMACEUTICAL AND/OR COSMETIC COMPOSITIONS

(54) Titre : PROCEDE DE PREPARATION DES HYDROXY-ACIDES GRAS INSATURES ET DE LEURS ESTERS, LEUR UTILISATION DANS DES PREPARATIONS PHARMACEUTIQUES ET/OU COSMETIQUES



(Id)

(57) Abstract: The invention concerns a method for preparing unsaturated fatty hydroxy-acids and esters thereof corresponding to general formula (Id) and their use in pharmaceutical and/or cosmetic formulations as active anti-collagenase, lipolytic and/or anti-acne agent.

(57) Abrégé : La présente invention se rapporte à un procédé de préparation des hydroxy-acides gras insaturés et de leurs esters répondant à la formule générale suivante (Id) : Formule (Id) et à leur utilisation dans des préparations pharmaceutiques et/ou cosmétiques comme agent actif anti-collagénase, lipolytique, et/ou anti-acnéique.



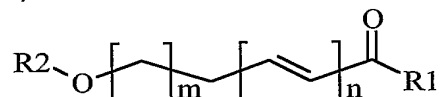
WO 03/022787 A1

PROCÉDÉ DE PRÉPARATION DES HYDROXY-ACIDES GRAS  
INSATURÉS ET DE LEURS ESTERS, LEUR UTILISATION DANS DES  
PRÉPARATIONS PHARMACEUTIQUES ET/OU COSMÉTIQUES

5 La présente invention se rapporte au domaine des procédés chimiques et à l'utilisation des produits obtenus par ces procédés chimiques.

La présente invention se rapporte plus particulièrement à un procédé de préparation des  
10 hydroxy-acides gras insaturés et de leurs esters répondant à la formule générale suivante (Id) :

Formule (Id)



15 avec  $n = 1$  à  $4$

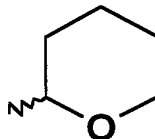
$m = 2$  à  $16$

$\text{R}_1 = \text{OH}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{OR}_3$  où  $\text{R}_3$  représente un radical alkyl, alcényl, alcynyl, linéaire ou ramifié de 1 à 16 carbones ou esters du glycérol, éventuellement  
20 substitué par un ou plusieurs atomes de carbone, d'azote, de soufre ou d'halogènes tels que fluor, chlore, brome et iode,

$\text{R}_2 = \text{H}, \text{SiR}'_1\text{R}'_2\text{R}'_3$  où  $\text{R}'_1, \text{R}'_2, \text{R}'_3$  identiques ou différents les uns des autres, représentent un  
25 radical alkyl, alcényl, alcynyl, linéaire ou ramifié de 1 à 16 carbones ou esters du glycérol, éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de carbone, d'azote, de soufre ou d'halogènes tels que fluor, chlore, brome et iode,

30 ou  $\text{R}_2 = \text{C-Ar}_3$  avec Ar représentant un radical aryl éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de carbone, d'azote, de soufre ou d'halogènes tels que fluor, chlore, brome et iode,

ou  $R_2$  = le tétrahydropyranyl de formule :



et à l'utilisation desdits produits comme agent anti-collagénase, agent lipolytique ou agent anti-acnéique dans une préparation médicamenteuse et/ou cosmétique.

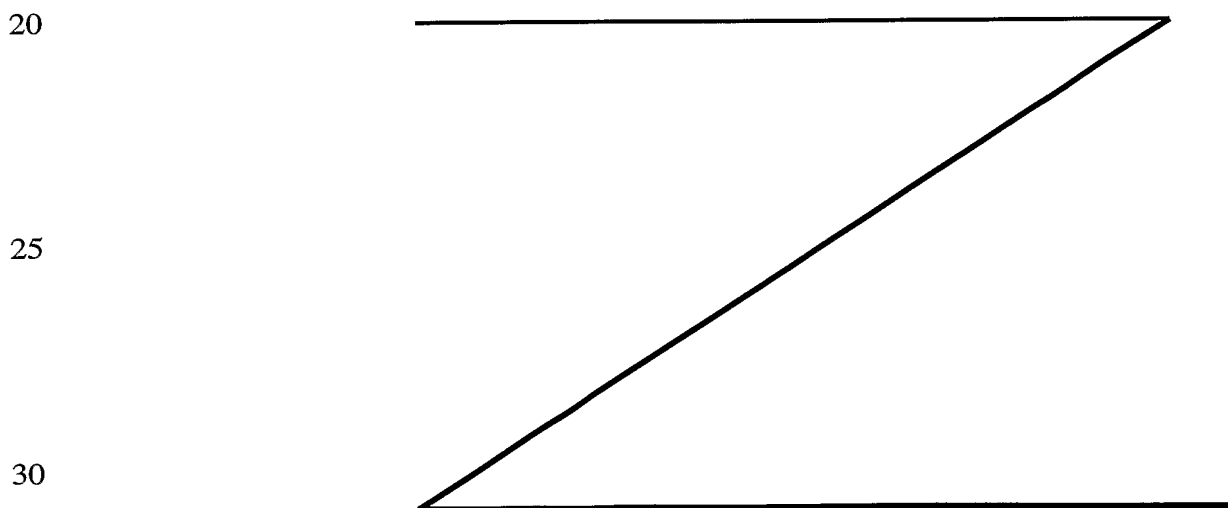
Les produits répondant à la formule générale (Id) sont connus et décrits dans la littérature pour leurs propriétés biologiques et plus particulièrement pour leurs propriétés cosmétiques et pharmacologiques. D'ailleurs, le principal constituant lipidique de la gelée royale des abeilles qui est l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (ou DHA) répond à la formule générale (Id) dans laquelle  $R_1 = OH$ ,  $R_2 = H$ ,  $n = 1$  et  $m = 3$ .

Différents documents de l'état de la technique rapportent des procédés de préparation des hydroxy-acides gras insaturés et de leurs esters (Lee et al., 1993, J. Org. Chem., vol. 58, pages 2918-2919 ; Hurd et Saunders, 1952, J. Am. Chem. Soc., vol. 74, pages 5324-5328 ; Krishnamurthy et al., 1989, Indian J. Chem. Sect. A, vol. 28, pages 288-291 ; Plettner et al., 1995, J. Chem. Ecol., vol. 21, pages 1017-1030). Les procédés déjà connus dans l'état de la technique présentent une étape d'oxydation durant laquelle des sels métalliques comme les sels de chrome ou de manganèse sont employés. Or, l'utilisation de sels métalliques présente un certain nombre d'inconvénients. D'une part, au niveau des produits obtenus par lesdits procédés, ces derniers peuvent être contaminés par les sels métalliques et donc leur application cosmétique

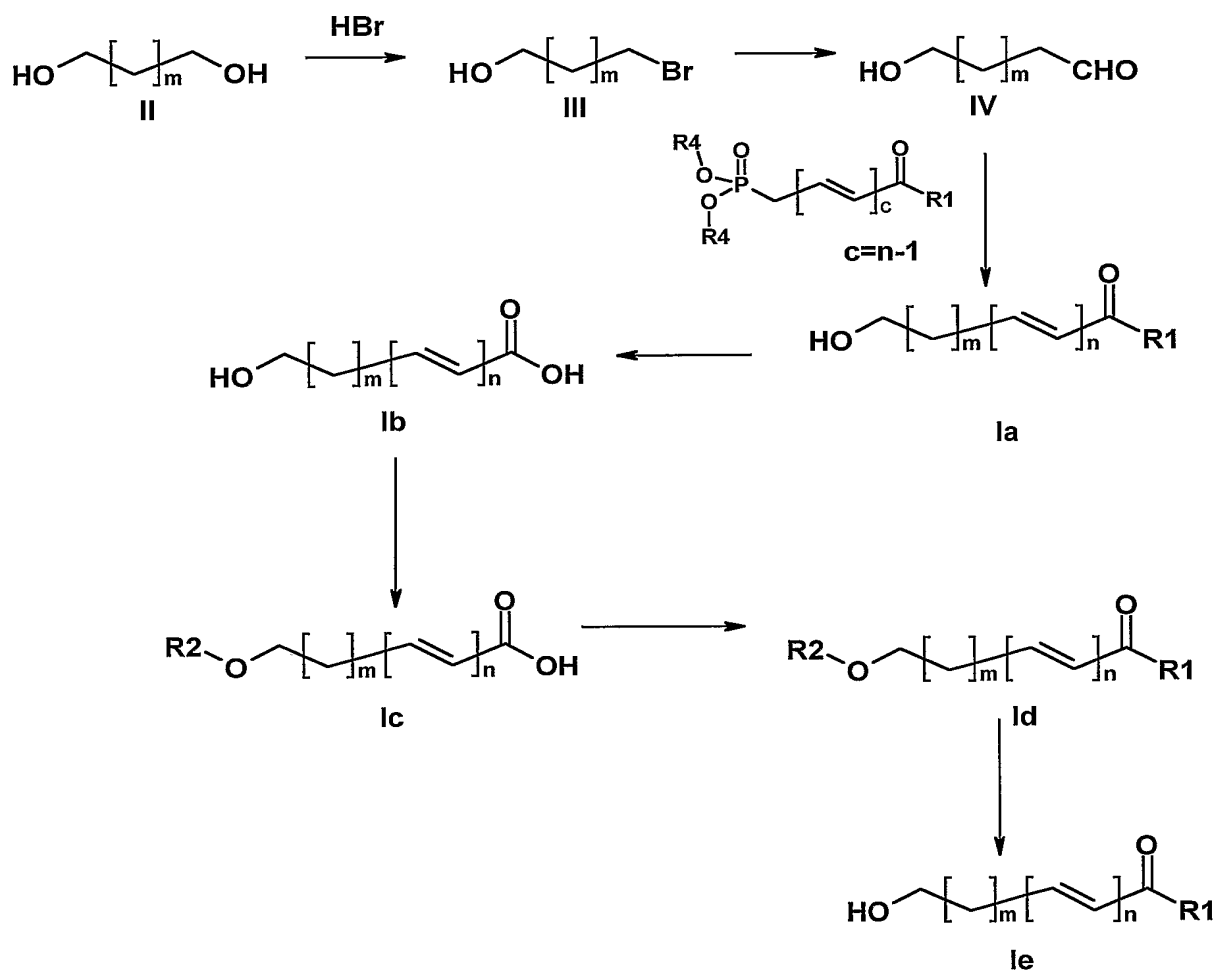
et/ou pharmacologique est limitée du fait de cette contamination. D'autre part, l'utilisation de sels métalliques entraîne une contamination de l'environnement des industries dans lesquelles la  
5 synthèse est effectuée.

Le procédé de préparation vise donc à résoudre les problèmes cités ci-dessus en proposant une nouvelle voie de synthèse originale permettant une  
10 transposition industrielle.

De plus, le procédé de l'invention est remarquable en ce qu'il permet d'obtenir une méthode de synthèse plus rapide avec de meilleurs rendements que les procédés déjà connus de l'art antérieur. En effet,  
15 le procédé de l'invention permet d'éviter, dans les premières étapes dudit procédé, les chromatographies qui ne sont pas des techniques industrielles de purification.



Le schéma général de synthèse est le suivant :



5

où  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $m$  et  $n$  ont la même signification que dans la formule (Id).

10

La première étape de cette synthèse est une bromation, le composé de départ de la réaction est un diol de formule (II). De nombreuses techniques permettant une bromation sont connues dans l'état de la technique et sont utilisables par l'homme du métier à cette étape. Cette bromation nécessite l'utilisation

15

d'un solvant qui peut notamment être le toluène, le benzène, le diméthylformamide, le tétrahydrofuran, le cyclohexane, l'heptane, l'éther de pétrole, etc... Le réactif utilisé dans cette étape de bromation peut être le HBr aqueux ou non, le  $\text{Ph}_3\text{P}, \text{Br}_2$ , le tétrabromide de carbone triphénylphosphine, l'acide hydrobromique. A titre d'exemple, on peut citer les conditions expérimentales de bromation utilisant du HBr aqueux décrites dans Geresh et al., Tetrahedron Asymmetry, 1998, vol. 9, pages 89-96.

La seconde étape est une oxydation en aldéhyde de formule (IV) en présence d'un N-oxyde d'amine tertiaire cyclique ou non cyclique, anhydre ou non anhydre en présence de DMSO. En fin de réaction, le bromhydrate de l'amine tertiaire correspondante est éliminé par simple filtration. De façon avantageuse, les N-oxydes d'amine tertiaire cycliques ou non cycliques, anhydres ou non anhydres présents à la seconde étape sont choisis parmi le N méthyl morpholine oxyde, le triméthylamine oxyde ou le triéthylamine oxyde ou mélange de ceux-ci. L'art antérieur connaît d'autres techniques permettant de synthétiser les aldéhydes de formule générale IV. Cependant, l'étape 2 du procédé de l'invention permet de résoudre les inconvénients des techniques déjà connues dans l'état de la technique. A titre d'exemple, on peut citer la réaction d'oxydation en présence de sels de manganèse des alcènes cycliques correspondant (Lee et al., 1993, J. Org. Chem., vol. 10, pages 2918-2919). L'étape 2 du procédé objet de l'invention permet donc d'éviter une étape en présence de sels métalliques. L'article de Guindon et al., de 1984 (J. Org. Chem., vol. 49, pages 3912-3920) décrit la synthèse de 8-hydroxy-octanal à partir de 1,1-diméthoxy-8-méthoxyméthoxy-octane.

Cependant le rendement de synthèse de 8-hydroxy-octanal est relativement faible (36%) alors que l'étape 2 de l'invention permet d'obtenir des rendements plus élevés. Les autres techniques connues dans l'art antérieur permettant de synthétiser les aldéhydes de formule générale IV sont des méthodes de synthèse longues présentant plus de 4 étapes.

L'étape 3 du procédé de l'invention est une réaction de Wittig-Horner. Cette réaction est une réaction connue de l'homme du métier (Modern Synthetic Reaction, Second edition, Herbert O. House, Wittig Horner reaction pages 682 à 709) et toute condition expérimentale décrite dans l'état de la technique peut être utilisée dans le cadre de la présente invention. A titre d'exemple, la réaction de Wittig-Horner peut être réalisée en présence de triéthylphosphonoacétate et de carbonate de potassium.

L'étape 4 du procédé de l'invention est une étape de saponification. Aucune condition expérimentale particulière n'est mise en œuvre dans le procédé de l'invention. L'homme du métier sera à même de trouver les conditions expérimentales adéquates à utiliser pour cette étape.

L'étape 5 du procédé est une étape de protection spécifique de la fonction alcool du composé de formule générale Ib obtenu à l'étape 4. Cette réaction s'effectue dans tout éther d'énol en présence d'un catalyseur acide. De façon avantageuse, la réaction s'effectue dans le dihydropyrane en présence d'APTS (Acide para toluène sulfonique). Le produit de formule générale Ic obtenu après l'étape 5 est purifié par simple lavage aqueux et séchage sur sulfate.

L'étape 2 et l'étape 5 du procédé de l'invention sont non décrites dans l'état de la technique. Elles permettent de résoudre les problèmes techniques décrits ci-dessus tout en augmentant le rendement et la rapidité du procédé de synthèse des composés de formule générale I.

Le produit de formule (Id) obtenu à l'étape 5 du procédé de l'invention peut subir une déprotection finale afin d'obtenir le composé de formule générale (Ie). Cette déprotection est réalisée dans une solution de méthanol contenant un catalyseur acide. Tout catalyseur acide peut être utilisé dans l'invention. De façon avantageuse, le catalyseur acide utilisé est l'ATPS.

Le produit de formule (Id) obtenu à l'étape 5 du procédé de l'invention peut être utilisé dans une réaction d'estérification du glycérol. Suivant les quantités relatives de glycérol utilisées, peuvent être obtenus des monoesters (2 isomères possibles : en position 1 et 2), des diesters (2 isomères possibles : diesters 1,1 et 1,2) et des triesters. Après l'étape d'estérification du glycérol, le composé obtenu peut subir une déprotection finale dans des conditions expérimentales identiques aux conditions de déprotection du produit de formule (Id) citées ci-dessus.

Les produits obtenus par le procédé objet de l'invention en instance sont, comme indiqué précédemment, utilisés dans le domaine cosmétologique et/ou pharmaceutique. Cependant, les travaux de la Demanderesse ont permis de mettre en évidence que les produits obtenus par le procédé de l'invention suivi



d'une étape de déprotection finale présentent une activité anti-collagénase.

5 Le collagène est la protéine la plus  
abondante et la plus importante du corps humain et de  
la peau. Cette scléroprotéine représente notamment 75%  
des protéines du derme auquel elle assure solidité. Le  
fibroblaste fabrique à partir des acides aminés  
(hydroxyproline, lysine, proline) des molécules de  
10 procollagène qui se transforment en présence de  
vitamine C en molécules de collagène. Pour former un  
réseau de fibrilles, le collagène doit créer des  
liaisons entre ces différentes molécules.

15 Le renouvellement du collagène change avec  
l'âge. Le collagène soluble qui donne souplesse et  
résistance à la peau et aux muqueuses se dégrade de  
plus en plus rapidement sous l'influence d'une enzyme  
protéolytique qu'est la collagénase, ce qui entraîne,  
au niveau du derme, un vieillissement de la structure  
20 fibreuse des protéines. En outre, le collagène  
insoluble qui entraîne une perte d'élasticité se  
rigidifie en se polymérisant avec des molécules de  
glucose grâce à des liaisons multiples difficilement  
réversibles (phénomène de glycation). Ces liaisons  
25 rendent le collagène plus résistant à l'attaque par les  
collagénases ce qui entraîne une rigidité croissante  
des fibres de collagène. Ce phénomène de durcissement,  
caractéristique des tissus cutanés âgés, doit être  
combattu le plus tôt possible car il augmente la  
30 destruction des fibroblastes par les radicaux libres  
mais aussi la dénaturation des protéines du derme.

Les collagénases sont des enzymes  
faiblement exprimées dans les conditions physiologiques  
normales. Leur surexpression lors du vieillissement et  
35 en particulier lors de la ménopause chez la femme

entraîne une dénaturation plus importante des protéines fibreuses du derme.

Cependant, la destruction des fibres de collagène peut survenir lors d'autres circonstances que le vieillissement. En effet, lors d'une infection bactérienne, les collagénases bactériennes peuvent détruire les fibres de collagène de l'hôte infecté.

De plus, l'invasion tumorale nécessite une dégradation de la membrane basale et de la matrice extra-cellulaire et de toutes les protéines de structure de ces composants parmi lesquelles se trouve le collagène. Ainsi, il a été montré une très nette relation entre le pouvoir invasif des tumeurs et la présence d'activité collagénase dans les tumeurs humaines. On retrouve les collagénases au niveau des cellules tumorales, mais aussi dans les fibroblastes entourant la tumeur. Les cellules épithéliales normales sécrètent un taux très faible de collagénases, alors que ces protéines sont surexprimées par les cellules tumorales invasives ou métastatiques.

D'autres maladies dégénératives présentent une dégénérescence fibrinoïde du collagène et sont également appelées « maladies du collagène ».

L'invention concerne donc l'utilisation des produits susceptibles d'être obtenus par le procédé de l'invention comme agent actif anti-collagénase. Les travaux de la Demanderesse ont plus particulièrement permis de mettre en évidence l'activité anti-collagénase de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) et du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (monoester du glycérol en position 1). L'invention concerne également l'utilisation de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-

2(trans)oïque comme agent actif anti-collagénase dans une préparation pharmaceutique et/ou cosmétique.

5 L'invention concerne l'utilisation de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) et/ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque pour la préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir la dégradation du collagène. Ce médicament est tout particulièrement  
10 destiné à prévenir ou à guérir la dégradation du collagène par les collagénases bactériennes lors d'une infection bactérienne.

15 L'invention concerne également l'utilisation de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) et/ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque pour la préparation d'un médicament destiné à la régénérescence de la peau et des ligaments.

20 L'invention concerne aussi l'utilisation de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) et/ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque pour la préparation d'un médicament  
25 destiné à prévenir ou à guérir l'invasion tumorale.

30 L'invention concerne aussi l'utilisation de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) et/ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque pour la préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir des maladies dégénératives présentant une dégénérescence fibrinoïde du collagène et également appelées « maladies du collagène ».

35

Les produits obtenus par le procédé objet de l'invention en instance sont, comme indiqué précédemment, utilisés dans le domaine cosmétologique et/ou pharmaceutique. Les travaux de la Demanderesse ont permis de mettre en évidence que les produits obtenus par le procédé de l'invention suivi d'une étape de déprotection finale et, plus particulièrement, l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) présentent une activité lipolytique. Par conséquent, les produits obtenus par le procédé de l'invention suivi d'une étape de déprotection finale et, plus particulièrement, le DHA peuvent, notamment, être utilisés dans les traitements amincissants et dans tout traitement connu pour nécessiter une activité lipolytique.

Les produits obtenus par le procédé objet de l'invention en instance sont, comme indiqué précédemment, utilisés dans le domaine cosmétologique et/ou pharmaceutique. Les travaux de la Demanderesse ont permis de mettre en évidence que les produits obtenus par le procédé de l'invention suivi d'une étape de déprotection finale et, plus particulièrement, l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) présentent une activité anti-acnéique.

Le traitement de l'acné nécessite le traitement de deux problèmes majeurs que sont, d'une part, l'hyperséborrhée et, d'autre part, la prolifération bactérienne responsable de l'inflammation cutanée. Les travaux de la Demanderesse ont permis de mettre en évidence que les produits obtenus par le procédé de l'invention suivi d'une étape de déprotection finale et, plus particulièrement, le DHA présentent à la fois une activité sébo-régulatrice et une activité anti-bactérienne.

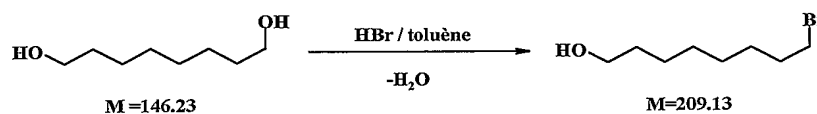
En effet, le DHA est capable d'inhiber la 5-alpha réductase cutanée, enzyme responsable de la production de la di-hydro-testostérone. Un traitement avec 0,1% de DHA et un traitement avec 0,5% de DHA réduisent respectivement d'environ 70% et d'environ 90% l'activité de la 5-alpha-réductase par rapport à un contrôle non traité. Cette inhibition entraîne une réduction considérable du taux de sébum.

De plus, 0,5% de DHA présentent, après 14 ou 28 jours de traitement, un effet bactéricide d'environ 95 à 100% testé sur *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* et *Malassezia furfur*.

D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront des exemples qui suivent concernant, d'une part, des procédés de synthèse de l'invention, et d'autre part, des propriétés anti-collagénase et lipolytique des produits susceptibles d'être obtenus par les procédés de synthèse de l'invention.

Exemple 1 : Mode opératoire pour la  
synthèse de Ia (n=1, m=6, R1=OEt) et Ie (triester de  
glycérol).

### 1. Etape 1 de Bromation.



438g (3mol) de 1,8-octanediol sont mis en solution dans 3l de toluène. 375ml (3.3mol) d'HBr aqueux 48% sont ensuite ajoutés. Le milieu est ensuite chauffé pour éliminer l'eau présente et l'eau formée lors de la réaction par distillation azéotropique.

Après 13.5h de contact, le milieu est refroidi et repris par une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$ . La phase organique est séparée et lavée par une solution saturée de  $\text{NaCl}$ . Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$ , le milieu est concentré pour donner un brut de 672g.

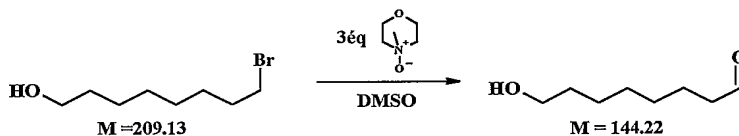
Le 8-bromooctanol est purifié par distillation sous pression réduite, à  $96^\circ\text{C}$  sous  $P < 1\text{mbar}$ ,  $m = 575\text{g}$  (92%).

#### Caractérisation :

- CCM :  $R_f = 0,8$  (heptane/éther iso 8/2)

- RMN  $^1\text{H}$  (200Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 3.65 (t, 2H,  $J = 6.4\text{Hz}$ ) ; 3.43 (t, 2H,  $J = 6.8\text{Hz}$ ) ; 1.87 (m, 2H) ; 1.36-1.69 (m, 10H).

#### 2. Etape d'oxydation en aldéhyde.



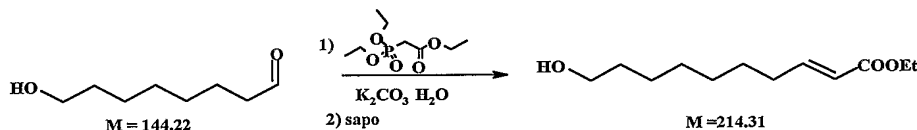
708 g (5.87, 3éq) de N-Oxyde de N-Methylmorpholine anhydre sont mis en solution, sous  $\text{N}_2$ , dans 3l de DMSO. 410g (1,96 mol) de 8-bromooctanol dissous dans 1l de DMSO sont ensuite additionnés en 30min. Le milieu devient limpide. Le bromure d'ammonium de la N-Methylmorpholine précipite. Après 65h d'agitation à température ambiante, ce sel est filtré et le milieu est repris par 4 l d'une solution saturée de  $\text{NaCl}$ . Après extraction par 4 x 1l d'acétate d'éthyle et séchage, 320 g de brut, constitués à 74% d'aldéhyde (R=83%) et 26% de 1.8-octanediol.

Caractérisation :

- CCM : Rf = 0,6 (heptane/acétate d'éthyle 8/2)

5 - RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 9.74 (t, 1H,  $J=1.7\text{Hz}$ ) ; 3.61 (t, 2H,  $J=6.6\text{Hz}$ ) ; 2.41 (dt, 2H,  $J=1.7$  et  $7.3\text{Hz}$ ) ; 1.51-1.65 (m, 4H) ; 1.24 -1.37 (m, 6H).

10 3. Etape 3 : Réaction de Witting-Horner.



15 Le brut précédent (320g) est placé en solution dans 3l d'eau. 800ml (4.2mol, 2.1éq) de triethylphosphonoacétate sont ensuite ajoutés suivis de 830g (6mol) de carbonate de potassium. Après 20h d'agitation, la réaction est terminée. Le milieu est extrait par 4 x 1l d'éther isopropylique. Après séchage

20 sur  $\text{MgSO}_4$ , les phases organiques sont évaporées pour conduire à 650g de brut.

Le produit est purifié soit par distillation  $E=120^\circ\text{C}$  sous  $P<1\text{mbar}$ .

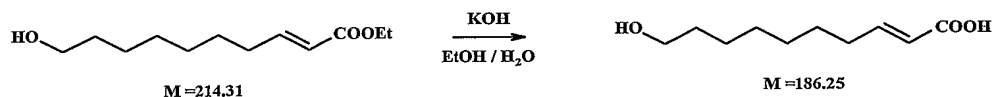
25 Dans ce cas, on récupère 280g d'un liquide incolore conforme par RMN (R=80% à partir de l'aldéhyde ou 66% à partir du dérivé bromé) soit par chromatographie avec une élution heptane/acétate d'éthyle 8/2 dans ce cas 119.6g de produits sont obtenus (28% à partir du dérivé bromé).

Caractérisation :

- CCM : Rf = 0,8 (heptane/acétate d'éthyle 8/2)

- RMN <sup>1</sup>H (400Mhz, CDCl<sub>3</sub>) : 6.91-6.99 (m, 1H) ; 5.78-5.82 (dt, 1H, J=1.4 et 15.6Hz) ; 4.17 (q, 2H, J=7.1Hz) ; 3.63 (t, 2H, J=6.6Hz) ; 2.18 (dq, 2H, J=1.2 et 7.3Hz) ; 1.22 -1.65 (m, 11H).

4. Etape 4 : Réaction de saponification.



119.6g (0.56mol) d'hydroxyester est dissous dans 600ml d'éthanol et 400ml d'une solution 4.6N de KOH sont additionnés. Le milieu est agité 8h. Le milieu est extrait par de l'éther isopropylique. La phase aqueuse est acidifiée à pH=1 et extraite à l'acétate d'éthyle. Après séchage et évaporation, 99.6g de solide rose sont obtenus. Recristallisé dans un mélange éther isopropylique / éther de pétrole, le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc (86g, 83%).

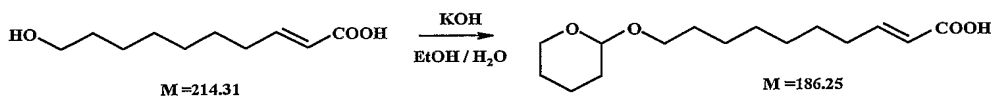
Caractérisation :

CCM : Rf = 0,2 (heptane/acétate d'éthyle 7/3)

Point de fusion : F=61.3°C

RMN <sup>1</sup>H (400Mhz, CDCl<sub>3</sub>) : 7.06 (dt, 1H, J=15.6 et 7Hz) ; 5.81 (dt, 1H, J=1.5 et 15.6Hz) ; 3.64 (t, 2H, J=6.6Hz) ; 2.22 (dq, 2H, J=1.2 et 7.3Hz) ; 1.52-1.58 (m, 2H) ; 1.45 -1.48 (m, 2H) ; 1.33 -1.3765 (m, 6H).



5. Etape 5 : Réaction de protection.

5 86g (0.46mol) d'hydroxyacide sont placés en solution avec 45ml (0.48mol) de 3,4-dihydro-2H-pyranne dans 500ml de THF. 1ml d'HCl concentré est ajouté et le milieu est agité 24h.

10 Le THF est ensuite concentré, le brut est repris dans de l'acétate d'éthyle et lavé avec une solution de NaCl saturée jusqu'à pH neutre. Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$ , 132g de produit brut sont obtenus (>100%) .

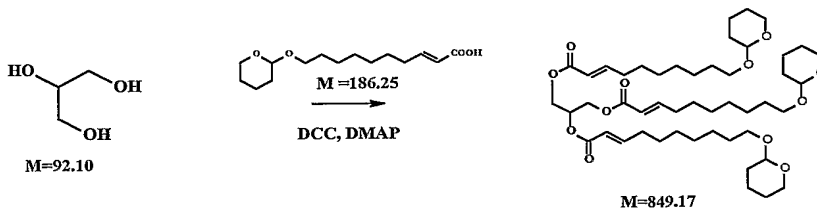
Caractérisation :

15 **CCM** :  $R_f = 0,4$  (heptane/acétate d'éthyle 7/3)

20 **RMN  $^1\text{H}$**  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.06 (dt, 1H,  $J=15.6$  et 7Hz) ; 5.81 (dd, 1H,  $J=1.6$  et 15.6Hz) ; 4.58 (t, 1H,  $J=2.8\text{Hz}$ ) ; 3.82-3.91 (m, 1H) ; 3.71-3.73 (m, 1H) ; 3.51 -3.52 (m, 1H) ; 3.36 -3.39 (m, 1H) ; 2.20 (m, 2H) ; 1.33 -1.89 (m, 16H).

6. Etape 6 : réaction d'estérification du glycérol.

25



30 8.4g (0.091mol) de glycérol sont placés en solution dans 500ml de dichlorométhane. Le brut précédent (0.46mol), après élimination des traces d'eau par distillation azéotropique, est dissous dans 500ml

de dichlorométhane et ajouté au milieu. 56.8g (0.46mol) de diméthylaminopyridine sont ensuite ajouté suivis de 97g (0.46mol) de dicyclohexylcarbodiimide. Le milieu est agité 78h. Un précipité apparaît qui est filtré.

5 Le milieu est concentré et repris dans de l'éther isopropylique. Après filtration et concentration, 156g de brut sont obtenus et purifiés par chromatographie et avec une élution heptane/acétate d'éthyle 7/3.

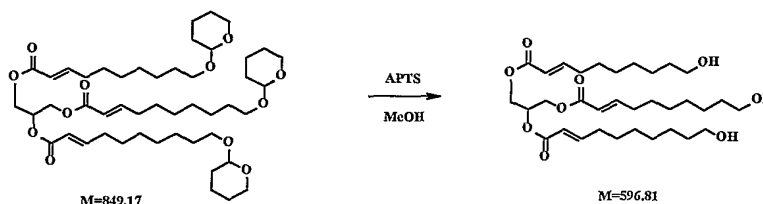
10 99g d'une fraction contenant  $\frac{2}{3}$  de produit  
et  $\frac{1}{3}$  d'acylurée sont obtenus.

### Caractérisation :

CCM : Rf = 0.7 (heptane/acétate d'éthyle  
15 7/3)

RMN <sup>1</sup>H (400Mhz, CDCl<sub>3</sub>) : 6.96 (m, 3H) ; 5.80 (dd, 3H, J=1.6 et 15.6Hz) ; 5.29-5.31 (m, 1H) ; 4.54-4.57 (m, 3H) ; 4.20-4.39 (m, 4H) ; 3.81-3.89 (m, 3H) ; 3.68 -3.72 (m, 3H) ; 3.41-3.49 (m, 3H) ; 3.34-3.39 (m, 3H) ; 2.25-2.18 (m, 6H) ; 1.33 -1.99 (m, 48H).

## 7. Etape 7 : Déprotection finale.



25 99g (0.136mol) du mélange précédent est  
solubilisé dans 1l de méthanol avec 9.9g d'APTS. Le  
milieu est agité 14h. La réaction est terminée, le  
milieu est alors concentré. L'huile obtenue est alors  
reprise dans H<sub>2</sub>O et amenée à pH=6 avec une solution  
30 saturée de NaHCO<sub>3</sub>. La phase aqueuse est extraite avec

du dichlorométhane. Après séchage de la phase organique et évaporation, 77g d'une huile jaune sont obtenus.

Le produit est purifié par chromatographie sur silice  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acétone 9/1 à 1/1 et  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /méthanol 95/5.

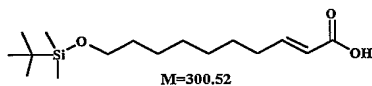
27 g de produit sont obtenus sous forme d'une huile qui cristallise sous forme d'un solide blanc jaune amorphe de pureté entre 85-90%.

#### Caractérisation :

CCM :  $R_f = 0.2$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /acétone 9/1)

RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 6.94-7.01 (m, 3H) ; 5.78-5.84 (m, 3H) ; 5.29-5.31 (m, 1H) ; 4.20-4.34 (m, 4H) ; 3.60 -3.65 (m, 6H) ; 2.16 -2.22 (m, 6H) ; 1.33 - 1.99 (m, 30H).

#### Exemple 2 : Mode opératoire pour la synthèse de:



#### 1. Etape 1 : Protection du 8-bromooctanol.

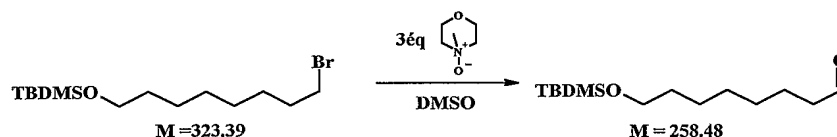


21 g (0,1 mol) de 8-bromooctanol sont dissous dans 200ml de dichlorométhane. 16 g (0,104 mol) de chlorure de terbutyldimethylsilyle sont ensuite ajouté à 0°C, suivis de 7,5 g (0,11 mol) d'imidazole. Un précipité se forme instantanément. Après 3h d'agitation, le milieu est filtré, concentré et le brut est distillé.

25,8 g de produit sont ainsi isolés à 99-104°C sous P <1 mbar (82%).

Caractérisation :

RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 3.59 (t, 2H,  $J=6.6\text{Hz}$ ) ; 3.39 (t, 2H,  $J=6.9\text{Hz}$ ) ; 1.82-1.89 (m, 2H) ;  
 1.30-1.50 (m, 10H) ; 0.88 (t, 9H,  $J=2.7\text{Hz}$ ) ; 0.04 (s, 6H) .

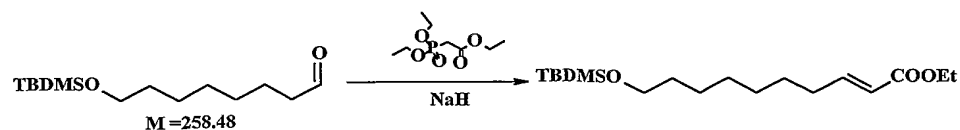
2. Etape 2 : Oxydation en aldéhyde.

20 g (61 mmol) de dérivé silylé sont mis en solution dans 200ml de DMSO. 21,7 g (0,18 mol) de *N*-oxyde de *N*-methyilmorpholine sont ensuite ajoutés. Le milieu est agité 72h. Un précipité apparaît. Le milieu est dilué avec NaCl saturé puis extrait avec de l'éther isopropylique. Après séchage et évaporation, 15,3 g de brut sont obtenus.

Le produit est purifié par distillation à 81°C sous  $P < 1\text{mbar}$  ( 9g, 57%).

Caractérisation :

RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 9.76 (t, 1H,  $J=1.9\text{Hz}$ ) ; 3.59 (t, 2H,  $J=6.6\text{Hz}$ ) ; 2.42 (dt, 2H,  $J=1.8$  et  $7.2\text{Hz}$ ) ; 1.49-1.68 (m, 4H) ; 1.30-1.32 (m, 6H) ;  
 0.88 (t, 9H,  $J=2.7\text{Hz}$ ) ; 0.04 (t, 6H,  $J=2.9\text{Hz}$ ) .

3. Etape 3 : Réaction de Wittig.

835 mg (21 mmol) de NaH sont mis en solution avec 5 ml de THF et refroidis à T<°C. 4,2 ml (22 mmol) de triéthylphosphonoacétate sont ajoutés goutte à goutte. Après 3h d'agitation à température ambiante, 5 g (19 mmol) d'aldéhyde sont ajoutés à froid et l'agitation est maintenue 17 h. Après hydrolyse avec H<sub>2</sub>O, extraction à l'acétate d'éthyle, séchage et évaporation, 6,7 g de brut sont obtenus.

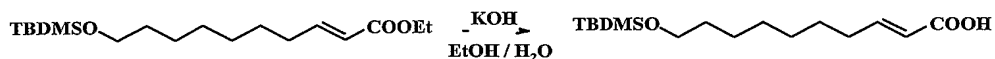
3,7 g de produits sont obtenus par  
10 purification sur gel de silice (élution heptane/acétate  
d'éthyle 8/2) (60%).

*Caractérisation :*

CCM : Rf= 0.6 (heptane /acétate d'éthyle  
15 8/2)

RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 6.95 (dt, 1H,  $J=$  8.6 et 15.6Hz) ; 5.79 (dt, 1H,  $J=$  1.4 et 15.6Hz) ; 4.17 (q, 2H,  $J=$  7.1Hz ) ; 3.58 ( dt, 2H,  $J=$  6.6 et 9.8Hz) ; 2.15-2.21 (m, 2H) ; 1.46 -1.51 (m, 4H) ; 1.24 -1.42 (m, 9H) ; 0.88 (t, 9H,  $J=$  2.7Hz) ; 0.04 (t, 6H,  $J=$  2.9Hz).

#### 4. Etape 4 : Saponification.



25 2 g (6 mmol) d'ester sont dissous dans 10 ml d'éthanol et 5 ml d'une solution de NaOH 3,8 N sont ajoutés. La réaction est terminée en 4h. Le milieu est acidifié à pH=1 et extrait à l'acétate d'éthyle. Le  
30 produit est ainsi obtenu sans autre purification (1,5 g, 83%).

Caractérisation :

CCM : 0.2 (heptane/acétate d'éthyle 7/3)

RMN  $^1\text{H}$  (400Mhz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 7.07 (dt, 1H,  $J=$  8.6 et 15.6Hz) ; 5.81 (dt, 1H,  $J=$  1.4 et 15.6Hz) ; 3.59 ( dt, 2H,  $J=$  6.6 et 9.8Hz) ; 2.21 -2.27 (m, 2H) ; 1.46 -1.51 (m, 4H) ; 1.24 -1.42 (m, 6H) ; 0.89 (t, 9H,  $J=$  2.7Hz) ; 0.04 (t, 6H,  $J=$  2.9Hz).

Exemple 3 : Evaluation de l'activité anti-collagénase de produits obtenus par le procédé de l'invention sur coupes congelées de peau humaine.

1. Mode opératoire.

Cette étude est réalisée sur différentes solutions à la concentration de 1 % et 2 % de principes actifs en comparaison avec l'excipient seul, les témoins tampon et collagénase. Les principes actifs utilisés sont le DHA, le 2-diméthylamino éthyl ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (ML40) et le glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (GM). Le tableau 1 résume les différentes solutions testées.

Tableau 1

Solution	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
DHA	2%			1%			2%			1%			
ML40		2%			1%			2%			1%		
GM			2%			1%			2%			1%	
Collagénase (U/ml)							30	30	30	30	30	30	30

Des coupes congelées de 5  $\mu\text{m}$ , provenant d'une plastie mammaire d'une femme de 54 ans, sont

placées sur des lames histologiques (4 coupes par lame). Chaque solution est testée sur une lame.

Les coupes sont recouvertes des solutions à tester puis mises à incuber pendant 2 heures à 37°C en chambre humide. Les solutions sont éliminées par rinçages répétitifs et les coupes sont colorées au picrosirius. L'examen microscopique est réalisé à l'objectif de 2,5 et les photographies papier sont prises avec un film Kodak Gold 100 ASA.

## 2. Résultats.

Le tableau 2 résume les résultats de l'altération de la structure collagénique en fonction de la solution testée. Une absence d'altération de la structure collagénique est indiquée par 0 alors qu'une structure collagénique moyennement ou nettement à très fortement altérée est indiquée respectivement par 1 ou 2.

Tableau 2

Solution	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
DHA	2%			1%			2%			1%			
ML40		2%			1%			2%			1%		
GM			2%			1%			2%			1%	
Collagénase (U/ml)							30	30	30	30	30	30	30
Altération de la structure collagénique	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2	2

De plus, l'application du témoin tampon Tris ou de l'excipient n'induit aucune altération de la structure collagénique.

Par conséquent, le produit DHA à 1 et à 2 % inhibe totalement l'activité de la collagénase, alors

que les produits ML40 et GM à 2% inhibe légèrement l'activité de la collagénase.

Exemple 4 : Evaluation de l'activité anti-collagénase du GM obtenu par le procédé de l'invention sur explants de peau humaine maintenue en survie.

1. Mode opératoire.

L'étude est faite sur un produit à 5% de GM en comparaison avec de l'excipient (hydrocérine), un contrôle positif et un témoin en présence de la collagénase à 100 U/ml.

L'hydrocérine est utilisé comme excipient pour la préparation du produit à appliquer. Cette étude a été réalisée deux fois. Dans la première étude, il a été constaté que l'action de la collagénase à J2 reste très limitée et non significative. Dans la deuxième étude, le temps d'application est prolongé et le prélèvement des explants est effectué à J2 et à J4.

a. Préparation des explants.

Des explants de peau humaine préparés et répartis en 16 lots de trois explants chacun sont mis en survie selon le tableau 3.

Tableau 3

	J2	J4
Témoin	3 explants	3 explants
Excipient	3 explants	3 explants
Produit à 5% GM	3 explants	3 explants
Contrôle positif	3 explants	3 explants
Témoin + collagénase	3 explants	3 explants
Excipient + collagénase	3 explants	3 explants
Produit à 5% GM + collagénase	3 explants	3 explants
Contrôle positif + collagénase	3 explants	3 explants



b. Application du produit à 5% de GM.

5 Le produit est appliqué à J0 et à J2 à  
raison de 20 mg par explant et la collagénase est  
incorporée dans les milieux de culture des 24 derniers  
lots.

c. Histologie.

10 Trois explants de chaque lot sont prélevés  
à J2 et à J4 fixés au Bouin ordinaire et traités en  
histologie.

L'étude histologique comprend :  
imprégnation en paraffine,  
15 coupes,  
coloration au rouge sirius F3B  
mesures colorimétriques du collagène par  
analyse d'images  
rapport avec photos.

20

2. Résultats.

Les prélèvements réalisés à J2 ne montrent  
aucune activité significative de la collagénase quelque  
soit le lot examiné. Pour cette raison, la survie, le  
25 contact et l'application sont prolongés jusqu'à J4.  
L'action de la collagénase est notée de 2 manières :  
intensité de la coloration du réseau de collagène et  
épaisseur de la structure dermique. Avec cette étude,  
sont corrélées la pénétration du principe actif et son  
30 activité inhibitrice vis-à-vis de la collagénase. Les  
résultats obtenus sont les suivants :

- pour les témoins sans collagénase, le  
derme présente une structure normale, avec des  
faisceaux de collagène réguliers dans tous les  
35 compartiments,

- pour les témoins avec collagénase, les faisceaux de collagène sont très fortement dégradés et l'épaisseur du derme a diminué de moitié,

5       - pour les explants avec excipient et collagénase, les faisceaux de collagène sont fortement dégradés, l'altération étant inférieure à celle observée sur les témoins avec collagénase, et l'épaisseur du derme a diminué de presque moitié,

10       - pour les explants avec produit à 5% de GM et collagénase, les faisceaux de collagène sont très légèrement dégradés et l'épaisseur du derme a légèrement diminué,

15       - pour les explants avec contrôle positif (phénanthroline) et collagénase, la structure dermique est identique à celle des témoins sans collagénase.

Dans ces conditions expérimentales, le produit GM montre une nette activité anti-collagénase.

20       Exemple 5 : Evaluation de l'activité anti-lipolytique du DHA obtenu par le procédé de l'invention sur des explants de tissus adipeux ex vivo.

1. Mode opératoire.

25       Le DHA est incorporé dans le milieu de culture à la concentration finale de 0,25 et de 0,5 %. Après un contact de 8 jours, l'activité est évaluée par dosage des lipides relargués dans le milieu de culture.

a. Préparation des explants.

30       Douze explants de tissus adipeux (plastie P202-AB31) sont préparés et mis en survie en milieu BEM (BIO-EC's Explants Medium). Les explants sont répartis en 4 lots de 3 explants :

35               un lot Témoin,  
              un lot Témoin Positif (caféine à 0,1%),

deux lots produit (DHA à 0,25 et 0,5%).

b. Application des produits.

5 A J0, les explants sont mis en survie dans 2 ml de milieu de culture, dans lequel le produit à tester est incorporé.

Ce traitement est renouvelé à J2, J4 et J6.

c. Prélèvements.

10 A J2, J4, J6 et J8, le milieu de culture est prélevé. Pour chaque explant, les milieux prélevés à J2, J4, J6 et J8 sont regroupés dans un même tube et conservé à -20°C en vue du dosage des lipides.

15 A J8, les explants de tissus adipeux sont prélevés et fixés dans du Bouin ordinaire en vue de l'étude histologique.

d. Histologie.

20 Les explants de tissus adipeux fixés sont déshydratés, imprégnés en paraffine, mis en bloc, coupés et colorés au trichrome de Masson.

e. Dosage des Lipides.

25 Après extraction du milieu de culture, les lipides sont séparés et dosés par CCM.

2. Résultats.

La viabilité et la morphologie des adipocytes est contrôlée par l'étude histologique.

30 L'activité lipolytique est évaluée par l'analyse des proportions de monoglycérides, diglycérides, triglycérides et acides gras libres.

a. Histologie.

Après 8 jours de maintien en survie, les explants témoins et traités ne présentent pas d'altérations visibles, ni de nécroses cellulaires.

5

b. Dosage des lipides.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 4 ci-dessous. Les résultats sont exprimés en masse ( $\mu\text{g}$ ) de chaque catégorie de lipides libérés dans le milieu de culture, pendant les 8 jours de traitement.

10

Tableau 4

	Mono-Glycérides		Di-Glycérides		Acides Gras		Tri-Glycérides	
$\mu\text{g}$	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type	Moyenne	Ecart Type
<b>Témoin</b>	4,58	2,15	0,04	0,04	0,97	0,09	106,07	9,90
Caféine 0,1%	1,22	0,44	0,02	0,01	27,99	4,24	197,34	15,17
DHA/JLB à 0.25%	3,64	0,12	0,00	0,00	11,42	1,12	156,15	10,65
DHA/JLB à 0.5%	7,06	2,68	0,00	0,00	11,53	1,09	202,56	45,32

Le tableau 5 ci-dessous représente l'analyse statistique par le test de Student des résultats du dosage des acides gras libérés dans le milieu de culture, pendant les 8 jours de traitement.

15

Tableau 5

	Témoin	Caféine	DHA à 0,25%	DHA à 0,5%
	1,10	33,89	9,95	12,81
	0,94	24,10	11,67	11,64
	0,87	25,97	12,66	10,14
Moyenne	0,97	27,99	11,42	11,53
Ecart-type	0,1	4,2	1,1	1,1
%		2780,6	1075,6	1086,8
d'augmentation/Témoin				
Probabilité « p »		0,012	0,005	0,005

5 Le paramètre essentiel dans cette étude est la variation de la quantité et le pourcentage des acides gras libérés dans le milieu de culture après la période de traitement.

10 Par rapport au Témoin non traité, une augmentation d'un facteur d'environ 29 (2780%) pour le témoin positif (caféine à 0,1%) est observée.

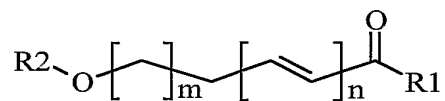
15 Le DHA à 0,25 et 0,50% entraîne une augmentation significative respectivement de 1075 et 1087%. L'augmentation de la concentration utilisée n'engendre pas des effets sur l'efficacité. Il semble que la dose maximale efficace soit de l'ordre de 0,25%.

20 Dans les conditions opératoires décrites ci-dessus et selon le test de Student, le DHA appliqué à 0,25 et à 0,5% présente une activité lipolytique significative en comparaison avec celle de la caféine.

## REVENDICATIONS

1) Procédé de préparation des hydroxy-  
acides gras insaturés et de leurs esters répondant à la  
5 formule générale suivante (Id) :

Formule (Id)



avec  $n = 1$  à  $4$

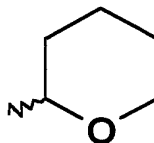
$m = 2$  à  $16$

$\text{R}_1 = \text{OH}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{OR}_3$  où  $\text{R}_3$  représente un  
radical alkyl, alcényl, alcynyl, linéaire ou ramifié de  
1 à 16 carbones ou esters du glycérol, éventuellement  
substitué par un ou plusieurs atomes de carbone,  
15 d'azote, de soufre ou d'halogènes tels que fluor,  
chlore, brome et iode,

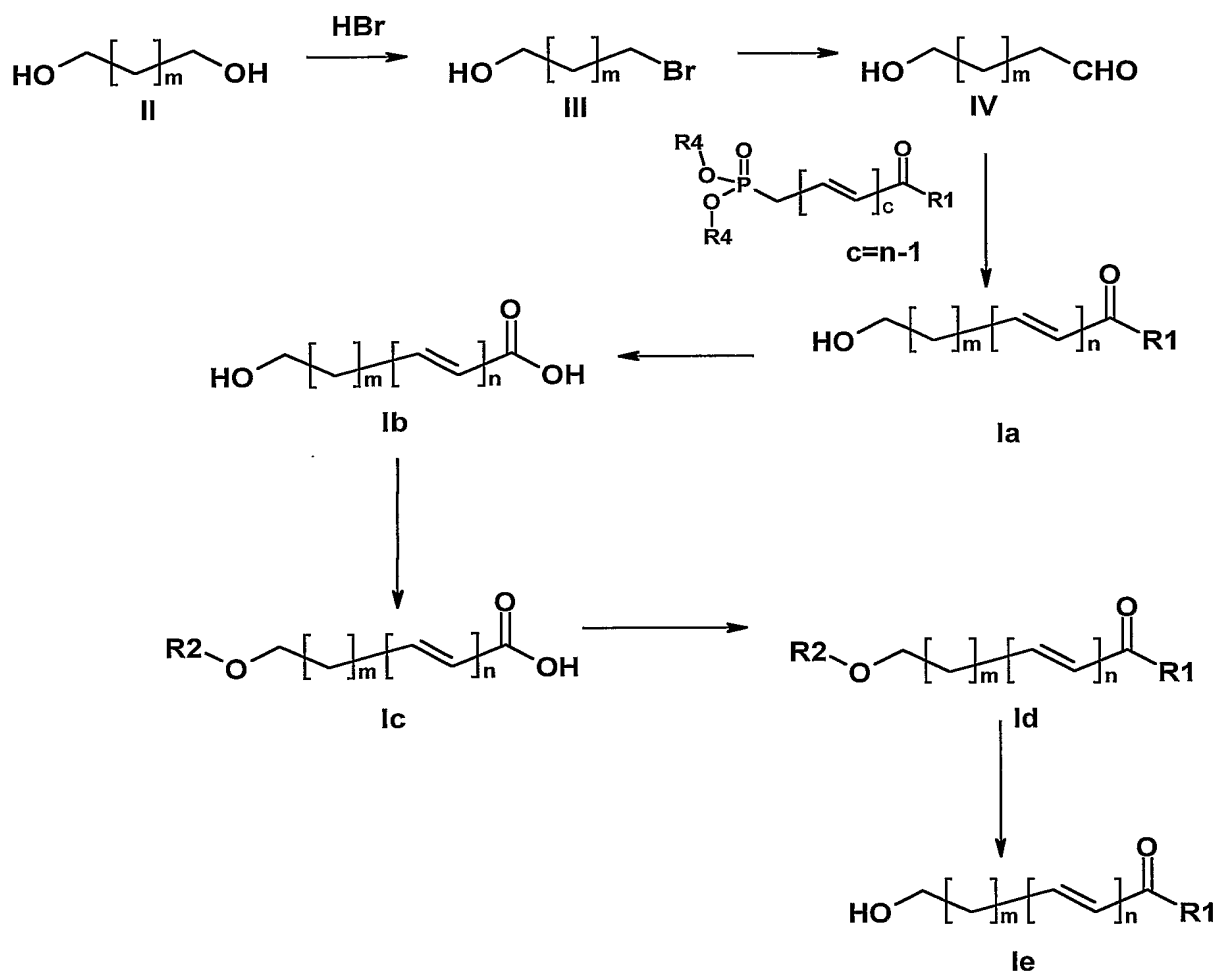
$\text{R}_2 = \text{H}, \text{SiR}'_1\text{R}'_2\text{R}'_3$  où  $\text{R}'_1, \text{R}'_2, \text{R}'_3$  identiques  
ou différents les uns des autres, représentent un  
radical alkyl, alcényl, alcynyl, linéaire ou ramifié de  
20 1 à 16 carbones ou esters du glycérol, éventuellement  
substitué par un ou plusieurs atomes de carbone,  
d'azote, de soufre ou d'halogènes tels que fluor,  
chlore, brome et iode,

ou  $\text{R}_2 = \text{C}-\text{Ar}$  avec  $\text{Ar}$  représentant un radical  
aryl éventuellement substitué par un ou plusieurs  
25 atomes de carbone, d'azote, de soufre ou d'halogènes  
tels que fluor, chlore, brome et iode,

ou  $\text{R}_2 =$  le tétrahydropyranyl de formule :



30 caractérisé en ce que le schéma réactionnel  
est le suivant :



où  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $m$  et  $n$  ont la même signification que dans la formule Id.

5

2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la première étape est une bromation, le composé de départ étant un diol de formule (II).

10

3) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la première étape nécessite l'utilisation d'un solvant.

4) Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le solvant est choisi parmi le toluène, le benzène, le diméthylformamide, le tétrahydrofuran, le cyclohexane, l'heptane, l'éther de pétrole.

5) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le réactif utilisé dans la première étape est choisi parmi le HBr aqueux ou non, le  $\text{Ph}_3\text{P}, \text{Br}_2$ , le tétrabromide de carbone triphénylphosphine et l'acide hydrobromique.

6) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la seconde étape est une oxydation en aldéhyde de formule (IV) en présence d'un N-oxyde d'amine tertiaire cyclique ou non cyclique, anhydre ou non anhydre et en présence de DMSO.

7) Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que le N-oxyde d'amine tertiaire cyclique ou non cyclique, anhydre ou non anhydre est choisi parmi le N méthyl morpholine oxyde, le triméthylamine oxyde ou le triéthylamine oxyde ou un mélange de ceux-ci.

8) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape 3 dudit procédé est une réaction de Witting-Horner et que l'étape 4 dudit procédé est une réaction de saponification.

9) Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que ladite réaction de Witting-Horner



est réalisée en présence de triéthylphosphonoacétate et de carbonate de potassium.

5                   10) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape 5 dudit procédé est une étape de protection spécifique de la fonction alcool du composé de formule générale (Ib) obtenu à l'étape 4.

10                   11) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape 5 s'effectue dans tout éther d'énol en présence d'un catalyseur acide.

15                   12) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape 5 s'effectue dans le dihydropyrane en présence d'APTS (Acide para toluène sulfonique).

20                   13) Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le produit de formule (Id) obtenu à l'étape 5 du procédé de l'invention subit une déprotection finale afin d'obtenir le composé de formule générale (Ie).

25                   14) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le produit de formule (Id) obtenu à l'étape 5 dudit procédé est utilisé dans une réaction d'estérification du glycérol  
30                   avant de subir une déprotection finale.

35                   15) Procédé selon l'une des revendications revendication 13 ou 14, caractérisé en ce que ladite déprotection est réalisée dans une solution de méthanol contenant un catalyseur acide.

16) Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le catalyseur acide utilisé est l'ATPS.

5

17) Utilisation d'un produit susceptible d'être obtenu par un procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, comme agent actif anti-collagénase dans une préparation pharmaceutique et/ou cosmétique.

10

18) Utilisation selon la revendication 17, caractérisé en ce que ledit produit est l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA) ou du glycérol ester de l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque.

15

19) Utilisation selon la revendication 18, pour la préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir la dégradation du collagène.

20

20) Utilisation selon la revendication 19, pour la préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir la dégradation du collagène par les collagénases bactériennes lors d'une infection bactérienne.

25

21) Utilisation selon la revendication 18, pour la préparation d'un médicament destiné à la régénérescence de la peau et des ligaments.

30

22) Utilisation selon la revendication 18, pour préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir l'invasion tumorale.

23) Utilisation selon la revendication 18, pour la préparation d'un médicament destiné à prévenir ou à guérir des maladies dégénératives présentant une dégénérescence fibrinoïde du collagène et également appelées « maladies du collagène ».

24) Utilisation d'un produit susceptible d'être obtenu par un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, comme agent actif lipolytique dans une préparation pharmaceutique et/ou cosmétique.

25) Utilisation d'un produit susceptible d'être obtenu par un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, comme agent actif anti-acnéique dans une préparation pharmaceutique et/ou cosmétique.

26) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 24 à 25, caractérisée en ce que ledit produit est l'acide hydroxy-10-décène-2(trans)oïque (DHA).

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/03094

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07C45/28 C07D309/12 C07C67/30 A61K31/231

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07C C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 684 988 A (FABRE PIERRE COSMETIQUE) 18 June 1993 (1993-06-18) page 1 -page 2	1-16
X	claim 8	17-26
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 143 (C-0703), 19 March 1990 (1990-03-19) & JP 02 015044 A (SHIN ETSU CHEM CO LTD), 18 January 1990 (1990-01-18) abstract	1-26

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 December 2002

Date of mailing of the international search report

17/12/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

O'Sullivan, P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/FR 02/03094

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>VILLIERAS ET AL: "La Reaction de Wittig-Horner en milieu heterogene VI. Selectivité de la reaction sur des composés bifonctionnels" TETRAHEDRON LETTERS., vol. 26, no. 1, 1985, pages 53-56, XP002198720 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM., NL ISSN: 0040-4039 page 54, paragraph 3 -----</p>	1-26

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 02/03094

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2684988	A	18-06-1993	FR 2684988 A1	18-06-1993
JP 02015044	A	18-01-1990	NONE	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der : Internationale No

PCT/FR 02/03094

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C07C45/28 C07D309/12 C07C67/30 A61K31/231

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07C C07D A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 684 988 A (FABRE PIERRE COSMETIQUE) 18 juin 1993 (1993-06-18) page 1 -page 2	1-16
X	revendication 8	17-26
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 143 (C-0703), 19 mars 1990 (1990-03-19) & JP 02 015044 A (SHIN ETSU CHEM CO LTD), 18 janvier 1990 (1990-01-18) abrégé	1-26
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 décembre 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

17/12/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

O'Sullivan, P

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der Internationale No  
PCT/FR 02/03094

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>VILLIERAS ET AL: "La Reaction de Wittig-Horner en milieu heterogene VI. Selectivité de la reaction sur des composés bifonctionnels"</p> <p>TETRAHEDRON LETTERS., vol. 26, no. 1, 1985, pages 53-56, XP002198720 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM., NL ISSN: 0040-4039 page 54, alinéa 3</p> <p>-----</p>	1-26



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De Internationale No

PCT/FR 02/03094

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2684988	A	18-06-1993	FR 2684988 A1	18-06-1993
JP 02015044	A	18-01-1990	AUCUN	